Aus dem hygienischen Institut der Universität Tübingen
Vorstand: Prof. Dr. Wolf

Die Bedeutung des Ammonchlorid-zitrat-agars für die Erkennung von Coli-Bakterien aus Wasser und Abwasser

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen
vorgelegt

von

Willibald Woitowitz

aus Stuttgart.

Verlag Franz Pietzcker, Tübingen

Druck der Buchdruckerei Eugen Göbel in Tübingen
1932

Zum Druck genehmigt von der Medizinischen Fakultät
der Universität Tübingen

Dekan: Prof. Dr. Haffner

Referent: Prof. Dr. Wolf

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die Bedeutung des Wassers im täglichen Leben.

„Das Wasser gehört zu den Nahrungsstoffen des Menschen, die nie in der Nahrung fehlen dürfen. Der menschliche Körper besteht zu etwa 70 Teilen aus Wasser. Seine Organe und Zellen können ihre Arbeit nur dann richtig leisten, wenn in ihnen der notwendige Wassergehalt beibehalten wird. Schon geringe Entziehung des Wassers ruft bedenkliche Zustände hervor. Bei Tieren tritt, wie nachgewiesen wurde, Dursttod ein, wenn etwa 20—22 % Wasser vom Körper abgegeben sind.

Das große Bedürfnis des Menschen nach Wasser erklärt sich daraus, daß fortwährend, gleichgültig, ob wir Wasser aufnehmen oder nicht, Wasser z. B. mit der Atmung und durch die Haut abgegeben wird.

Das Wasser dient dem Menschen noch zu vielen anderen Zwecken: Zum Waschen der Kleidung, zum Reinigen des Körpers, des Hauses, der Straße. Er benutzt es in der Industrie."

Das Leben auf den immer dichter werdenden Siedlungsflächen und in den ständig wachsenden Großstädten ist also nur möglich bei einer regelmäßigen Versorgung mit einer ausreichenden Menge guten Wassers. Die Beschaffung großer Wassermassen darf aber nicht auf Kosten ihrer Güte erfolgen. Das Wasser muß die Eigenschaften besitzen, die man von einem guten Trinkwasser verlangen muß, so sehr auch Flüsse und Seen durch Abwässer und bei Eindringen der Abfallstoffe in die tieferen Schichten des Wohnuntergrundes die entsprechenden Grundwässer unter Verunreinigung zu leiden haben.

Wie soll gutes Trinkwasser beschaffen sein?

„Die Anforderungen die man an ein gutes Wasser in hygienischer Hinsicht stellt, sind im allgemeinen die, daß das Wasser klar sein muß, und daß es frei ist von jedem abnormen Geruch und Geschmack, daß es nach Möglichkeit zum Genuß direkt anreizt, daß seine Temperatur gesundheitlich bekömmlich, d. h. weder im Winter zu kalt (und damit Anlaß zu Magen- und Darmstörungen gibt), noch im Sommer zu warm ist, sodaß es die Frische nicht besitzt, deretwegen es gerade in dieser Jahreszeit besonders begehrt ist, und daß es unter keinen Umständen zu irgendwelchen Gesundheitsschädigungen Anlaß gibt."

Wie beschafft man das notwendige Trinkwasser?

Das Regenwasser, mit dem im Altertum selbt Weltstädte versorgt wurden, und das auf den Dächern und in den Höfen aufgefangen und in Zysternen geleitet wurde, wird heutzutage, abgesehen von verschwindenden Ausnahmen, wo man infolge besonderer örtlicher Verhältnisse noch darauf angewiesen ist, wie auf

Helgoland überhaupt nicht mehr verwendet. Das hat seine Gründe in der schwankenden Menge, die abhängig ist von den Niederschlägen und wohl meist auch unzureichend für den heutigen großen Bedarf. Und was am meisten dagegen einzuwenden ist: Die Gefahr der Verunreinigung ist sehr groß.

Man hat deswegen schon in früher Zeit Brunnen gegraben, um das Wasser, das in der Tiefe als Grundwassersee sich findet oder als Grundwasserstrom im Erdreich langsam weiterfließt, für den Gebrauch nutzbar zu machen. An einigen Stellen der Erdrinde, wo etwa eine wasserundurchlässige Schicht die Oberfläche erreicht, tritt das von ihr mitgeführte Grundwasser ganz von selbst als Quellwasser zutage.

Als das Brunnen- und Quellwasser bei der immer steigenden Massenforderung nicht mehr ausreichte, hat man zum Wasser aus Bächen, Flüssen und Seen gegriffen. Bald aber zeigte sich, daß das Wasser aus Bächen und Flüssen viel zu sehr verunreinigt ist, als daß es, ohne der Gesundheit zu schaden, genossen werden könnte. Überdies ist die Wassermenge allzu großen Schwankungen unterworfen, sodaß in der Versorgung mit brauchbarem Oberflächenwasser nur das Seewasser sich behaupten konnte. Für die Versorgung mit Seewasser kommt in Frage, einmal das Wasser aus der Tiefe eines größeren, natürlichen Sees und zum andernmal das Wasser aus künstlichen Seen, die durch Anlage großer Talsperren entstanden sind. In der Tiefe solcher Seen ist die Temperatur des Wassers so niedrig und so geringen Schwankungen unterworfen, sodaß sie der Anforderung eines frischen Trinkwassers, ungefähr 10 Grad Cel. jahraus, jahrein zu messen, vollkommen entspricht. Durch Absitzen wird das Wasser von seinen Schwebestoffen befreit, d. h. klar. Die Oxydation vieler Wasserbestandteile durch den Sauerstoff der Luft und die Lebenstätigkeit gewisser Wasserorganismen im sogenannten Plankton wandeln das vielleicht vorher unbrauchbare Zuflußwasser um in ein gutes und brauchbares Trinkwasser.

Die Gefahren, die das Trinkwasser bedrohen.

Das Trinkwasser kann durch Aufnahme gewisser Giftstoffe gesundheitsschädlich werden. So ist zum Beispiel bekannt, daß das Wasser in der oberschlesischen Gemeinde Reichenstein Arsen enthält. Es wird aus Schlackenhalden, auf denen arsenhaltiges Gestein lagert, durch den Regen ausgespült und mischt sich dem Grundwasser bei. Der Gehalt des Wassers an Arsen ist so groß, daß zahlreiche Fälle chronischer Arsenvergiftung aufgetreten sind. So ist es auch vorgekommen, daß aus Gerberei- und Färbereiabwässern Arsen in das Leitungswasser übergetreten ist und zu Vergiftungen Anlaß gab. Es ist weiter bekannt, daß Hasterlik in einem Brunnen, der in der Nähe einer mit Quecksilber arbeitenden Imprägnieranstalt lag, große Quecksilbermengen gefunden hat. Es waren 258 mgl Quecksilber, entsprechend 350 mgl Quecksilberchlorid.

Die größte Gefahr droht dem Trinkwasser jedoch von menschlichen und tierischen Ausscheidungen. In ländlichen Gegenden beobachtet man nicht allzuselten Mist- und Jauchegruben, die in der Nähe von Brunnen liegen und ihren flüssigen Inhalt durch schadhafte Brunnenmauern dem Wasser beimengen. Daß Küchenabwässer, Abortgrubenflüssigkeit und was von den Misthäufen abläuft in die

Bäche weitergeleitet wird, findet man an manchen Orten als ganz selbstverständlich. Kommt es irgendwie vor, daß ein Bach im Untergrund versickert und an irgend einer andern Stelle des Geländes wieder als Quelle an die Oberfläche tritt, dann wird es nicht verwunderlich sein, daß solche Quellen gefährliche Epidemien hervorrufen können, indem sie mit dem Darminhalt auch die Erreger von Darmkrankheiten verbreiten können. Wird das Trinkwasser gar aus Bächen und Flüssen direkt entnommen, was ja für die Versorgung größerer Gemeinden heute verboten ist, dann ist das Wesen der Verbreitung solcher Darmkrankheiten noch viel augenscheinlicher. „Solche Darmkrankheiten sind Abdominaltyphus, asiatische Cholera, Paratyphus, vielleicht in einzelnen Fällen Wurmkrankheiten und Ruhr, d. h. die Krankheiten, die ihren Sitz im Magendarmkanal des Menschen haben, und deren Erreger durch die menschlichen Ausscheidungen verbreitet werden. Es sei in diesem Zusammenhang an die große Choleraepidemie in Hamburg erinnert, der im Jahre 1892 nicht weniger als etwa 16 000 Erkrankungsfälle mit etwa 8000 Todesfällen zugeschrieben wurden. Im darauffolgenden Winter erfolgte in der Irrenanstalt Nietleben bei Halle ein ähnlicher, allerdings wesentlich kleinerer Choleraausbruch, ebenfalls durch Verseuchung der Anstaltswasserleitung, der damals etwa 300 Krankheitsfälle zur Folge gehabt hat. Weiter seien die große Typhusepidemie in Gelsenkirchen vom Jahre 1901 mit rund 6000 Krankheitsfällen, in Pforzheim im Jahre 1919 mit rund 4000 Erkrankungen, im Jahre 1926 in Hannover mit rund 3000 Krankheitsfällen erwähnt. Aber es sind in der Literatur sowohl im Ausland wie auch in Deutschland sicher noch hunderte von Fällen bekannt, in denen kleinere Epidemien oder Krankheitshäufungen auf die Verseuchung des Wassers mit Typhusbazillen zurückgeführt werden mußten. Auch die Häufungen von Magendarmkrankheiten werden auf den Genuß unreinen bzw. nicht genügend gereinigten Wassers zurückgeführt. Bekannt ist ja, daß in Hannover kurz vor Ausbruch der Epidemie aus der gleichen Ursache auch eine weitverbreitete Magendarminfektion beobachtet wurde, die nach amtlichen Mitteilungen über 30 000 bis 40 000 Fälle umfaßte und in der Stadt Hannover geradezu als Hannover'sche Krankheit bezeichnet wurde."

Wie erkennt man fühzeitig genug diese Gefahren für das Trinkwasser, um sie noch rechtzeitig abwenden zu können?

Davor schützt nur die regelmäßige Trinkwasseruntersuchung. Ehe das Trinkwasser an den Verbraucher geht, wird ermittelt, ob es, wie schon angedeutet, abnorme Beimengungen an Chemikalien wie Arsen, Quecksilber usw. enthält. Im allgemeinen sind derartige Vergiftungen nicht allzu häufig.

Das Hauptaugenmerk ist auf solche Bestandteile zu richten, deren Anwesenheit den Verdacht auf Zufluß organischer Stoffe erregen. In Betracht kommen hier Produkte der Verwesung, die Ausscheidungen von Mensch und Tier selbst, oder aber meistens nur Verbindugen, die durch Abbau und Oxydation daraus entstanden sind. Man prüft deshalb den Gehalt an oxydationsfähigen Substanzen, weil eben dem Organischen diese Eigenschaft zukommt. Ein hoher Gehalt an Kochsalz läßt an Beimengung von menschlichen Fäzes denken, denn diese zeichnen

sich aus durch einen besonderen Reichtum an Kochsalz. Der Abbau des Eiweißstickstoffes erfolgt über unzählige Stufen bis zum Ammoniak und weiter durch Oxydation zu salpetriger Säure und zu Salpetersäure, die dann die Wurzeln der Pflanzen aufnehmen, um ein neues Eiweißmolekül daraus zu schaffen.

Man kann also bei Anwesenheit von Stickstoffverbindungen im Trinkwasser nicht nur sagen, daß Substanzen aus dem tierischen oder menschlichen Stoffwechsel die wahrscheinliche Ursache sind, sondern an der jeweiligen Stufe der Oxydation, ob höhere oder niedrigere Stufen überwiegen, daß das Wasser seit jener Beimengung bereits einen mehr oder weniger großen Reinigungsprozeß durchgemacht hat. So sind kleine Mengen von Ammoniak als gefährlicher zu werten als etwa größere Mengen von Salpetersäure. Selbstverständlich ist wesentlich für die Beurteilung oft nicht so sehr der Nachweis von derartigen Stoffen, als vielmehr das Vorhandensein in so großen Mengen, die bestimmte Minimalwerte, die man als unschädlich erkannt hat, überschreiten.

Neben diesen rein chemischen Untersuchungen stehen die nicht weniger wichtigen biologischen und bakteriologischen Untersuchungen. Ganz klares und reines Quellwasser besitzt eine ganz andere Wasserflora und -fauna als verunreinigtes Wasser oder gar als Abwasser aus Küche und Abort. Dem Hygieniker sind die Lebewesen, die in den verschiedenen Wasserarten gedeihen, kein Geheimnis mehr. Er kann daher an der Art der Wasserbewohner die Güte des Wassers ablesen.

Die bakteriologische Untersuchung hat sich hauptsächlich mit den Erregern der bereits erwähnten Darmkrankheiten zu befassen, unter denen der Abdominaltyphus die größte Beachtung verdient. „Leider sind aber die Methoden des Nachweises von belebten Krankheitserregern im Wasser so wenig aussichtsreich, daß man vielfach mit der Untersuchung des Wassers nach Krankheitskeimen zu spät kommt. Der Typhus z. B. hat im allgemeinen eine Inkubationszeit von 2—3 Wochen, gelegentlich noch länger, da es meist noch einige Tage dauert bis die Krankheit erkannt wird und die nötigen Meldungen erstattet sind. Es kommt hinzu, daß sich Typhusbazillen in reinem Wasser nicht lange halten. Bereits innerhalb von wenigen Tagen nimmt die Zahl der im Wasser befindlichen Typhusbazillen sehr stark ab, da sie in bezug auf Nährstoffe und Temperatur sehr anspruchsvoll sind. Es sind deshalb Typhusbazillen selten im Leitungswasser gefunden worden, selbst wenn das Wasser im dringenden Verdacht stand, eine größere Typhusepidemie hervorgerufen zu haben.

Man ist infolgedessen für die hygienische Beurteilung des Wassers auf eine Reihe von andern Methoden angewiesen, die aber immer nur einen Indikator für die Möglichkeit der Verunreinigung auch mit Krankheitskeimen abgeben können. Seit den Anfangszeiten der Bakteriologie wird zu diesem Zweck die Bestimmung der Gesamtkeimzahl ausgeführt. Die Methode hat darin ihre Begründung, daß doch wohl nur in den allerseltensten Fällen Typhusbazillen, wenn sie in eine Leitung hineinkommen, in Reinkultur sich finden. Sozusagen sind sie regelmäßig in einem Gemisch der verschiedensten Bakterien vorhanden, die zusammen in die Wassergewinnungsanlage oder die Leitung hineinkommen. Erfahrungsgemäß findet sich also in solchen Fällen auch immer eine Zunahme der nicht pathogenen Bakterien. Von Robert Koch ist seinerzeit der Vorschlag gemacht worden, für die Beschaffenheit des Wassers eine Keimzahl von 100 pro Kubikzentimeter

Wasser als Richtzahl anzunehmen. Man versteht unter Keimzahl die Anzahl der Bakterienkolonien, die bei Verwendung einer bestimmten Nährgelatine bei 22° innerhalb 48 Stunden aus 1 ccm Wasser sich soweit entwickelt haben, daß sie mit einer sechsfach vergrößernden Lupe gesehen und gezählt werden können. Bei dieser Zahl ist man, da sie sich in vielen Hunderttausenden Untersuchungen bewährt hat, bisher im allgemeinen geblieben.

Findet der Hygieniker unter den Kolonien, welche die ausgekeimten Wasserbakterien gebildet haben, die Kolonien des Colibazillus, dann erweckt das, da jedenfalls der menschliche oder tierische Darm die Hauptfundstelle des Colibazillus ist, und wo er immer zu finden ist, den immerhin dringenden Verdacht, daß eine Infektion des Wassers mit Fäzes stattgefunden hat.

Da im allgemeinen die durch Wasser verbreiteten Krankheiten ihren Sitz im Darm haben, so ist demnach die Anwesenheit des Colibazillus im Trinkwasser besonders, wenn er regelmäßig und in größeren Mengen festgestellt wird, ein wichtiger Maßstab für die Gesundheitsgefährlichkeit eines Wassers.

Für die Untersuchung hat sich bewährt, die Prüfung auf Colibazillen bei etwas höherer Temperatur (45—46 Grad) vorzunehmen, da sich herausgestellt hat, daß die meisten im Darm von Warmblütlern (Menschen) vorkommenden Colibazillen auch bei dieser etwas höheren Temperatur wachsen können, während die im Darm von Kaltblütlern (Fischen) vorkommenden Colibazillen bei dieser Temperatur nicht mehr zu wachsen vermögen. Auf die Bestimmung der sogenannten Kaltblütlercolibazillen wird kein Wert gelegt, da von den Fischen der menschlichen Gesundheit keine Infektionsgefahr droht." Ehe ich den Nachweis des bacterium coli erörtere, will ich kurz auf seine Eigenschaften hinweisen.

Eigenschaften des bacterium coli commune nach Gärtner.

Gärtner bezeichnet als bacterium coli commune ein kurzes, bis sehr kurzes gramnegatives, sporenloses Stäbchen, das Gelatine innerhalb von 14 Tagen nicht verflüssigt und Traubenzucker unter Säure- und Gasbildung vergärt. Außerdem bringt es Milchzucker unter Säure- und Gasbildung zur Vergärung. Daher entstehen auf Conradi-Drigalski und Endonährboden rote Kolonien. Beide Nährböden enthalten Milchzucker, dem im ersten Fall neutrale Lackmuslösung und im zweiten Fall die Leukobase (farblose, basisch reagierende Form) des Fuchsin zugesetzt ist. Durch Säurewirkung wird die leicht violette, neutrale Lackmuslösung rot und die Leukobase schlägt um in die hochrote Farbe des Fuchsin. Außerdem verlangt Gärtner vom typischen bacterium coli commune, daß es Milch gerinnen macht, Neutralrot innerhalb von 48 Stunden zu einem fluoreszierenden Farbstoff reduziert und aus Peptonlösung Indol bildet.

Nachweis des bacterium coli nach Bürger (1).

Zur Erkennung von Colibakterien aus Wasser und Abwasser hat sich die von Bürger an der Preußischen Landesanstalt für Wasser-, Luft- und Bodenhygiene geübte Methode als sehr geeignet und gut bewährt. Nach Bürger werden fallende

Mengen des zu untersuchenden Wassers, entweder im Eijkmanröhrchen mit Traubenzucker-Peptonlösung oder nach Bulir mit Neutralrot-Mannitlösung beschickt. Die Bebrütung wird mit Parallelproben vorgenommen. Die einen werden bei 37 Grad bebrütet, um geschwächte Colibazillen zum Keimen zu bringen. Die anderen werden der höheren Tempertaur von 46 Grad ausgesetzt, um das Wachstum von Begleitbakterien zu hemmen. Ergibt die Bulirprobe gelbe Fluoreszenz, dann wird alkalische Lackmuslösung zugegeben. Nur wenn Rotfärbung eintritt, erfolgt das Ausstreichen auf Endo-Agar. Wachsen auf diesem Kolonien von typischem Aussehen: rote Kolonien mit grünlicher Fluoreszenz, dann wird bei 37 Grad und bei 46 Grad, vor allem in bunter Reihe (Lackmusmolke, Conradi-Drigalski usw.) weiter untersucht. Bürger prüft dann noch das Wachstum auf der von ihm angegebenen Milchzucker-Fuchsin-Gelatine mit oder ohne Carbolzusatz von 5 % und läßt bei 22 Grad bebrüten. Bürger arbeitet schon lange nach dieser Methode und die Art wie er immer wieder darauf hinweist und sie empfiehlt, läßt annehmen, daß er damit gute Erfolge erzielt hat.

Auf der Suche nach neuen Eigenschaften des bacterium coli commune.

Bei der großen Bedeutung, welche die sichere Erkennung des typischen bacterium coli commune für die Trinkwasserbeurteilung hat, ist es verständlich, daß sich die Forscher seit Jahren bemüht haben durch Erweiterung der Untersuchungs- und Kulturverfahren die Art des bacterium coli commune immer mehr einzuengen und es damit schärfer abzugrenzen gegen die coli-ähnlichen Bakterien. Koser (Amerika) hat Nährboden mit den verschiedensten Kohlenstoffquellen beschickt, d. h. er hat dem bacterium coli commune und coli-ähnlichen Bakterien den zum Wachstum nötigen Kohlenstoff in Gestalt kohlenstoffhaltiger Substanzen zur Verfügung gestellt. Diese kohlenstoffhaltigen Substanzen wurden nach Art und Menge viele Male gewechselt. Koser hat nun jedesmal vergleichend beobachtet wie das bacterium coli commune gewachsen ist und wie die coli-ähnlichen gewachsen sind. Schließlich hat er gefunden, daß auf einem Nährboden mit Zitrat als Kohlenstoffquelle die Colibakterien nicht zu gedeihen vermögen, während die coli-ähnlichen Bakterien üppig gewachsen sind. Im Jahre 1923 schreibt Koser (4):

„The most stricking results were obtained with citric acid. Here the fecal Bact. coli type consistently failed to develop while the Bact. aerogenes cultures multiplied readily and produced a luxuriant growth. A concentration of 0,1 to 0,5 per cent sodium citrate was found to be most useful for securing growth by Bact. aerogenes. Smaller amounts do not supply sufficient available carbon to permit an abundant growth while larger amounts retard the developement."

Im Jahre 1924 veröffentlichte Koser (5) die Resultate weiterer Untersuchungen. Er schreibt darüber folgendes: „The results confirmed previous work in that the typical Bact. coli of fecal origin is unable to utilize sodium or potassium citrate when supplied as the sole souree of carbon, whereas the aerogenes-cloacae types, which represented the largest section of the soil cultures, all utilized citrate readily."

Die im Jahre 1926 erschienenen Veröffentlichungen Kosers (6) über die Untersuchungen mit Substanzen als Kohlenstoffquellen, die dem Zitrat in der Struktur ganz ähnlich sind, bestätigen nur die dem Zitrat im besonderen eigene Verwertbarkeit durch coli-ähnliche Bakterien und im Gegensatz hierzu die Unverwertbarkeit durch das tyische bacterium coli commune. Wir erfahren darüber:

„Although several of these acids (organic acids of the dicarboxylic series) are structurally quite similar to citri cacid, none of them afforded the same distinction between the intestinal Bact. coli and other members of the colon-aerogenes group which may be brought out by means of the citric acid."

Laban W. Leiter (7) hat ebenfalls die Verwertbarkeit von Zitrat geprüft und außerdem die Verwertbarkeit des Stickstoffes aus Harnsäure und die Indolbildungsfähigkeit studiert.

„Of 323 strains isolated from feces of man and warm-blooded animals

309	319	315
or	or	or
90,25 p. c.	98,76 p. c.	97,52 p. c.
produced	failed to utilize	failed to utilize
Indol	sodium citrate	the N of uric acid.

A close correlation exists between the fermentation of Eiykman's dextrose-peptone broth at 46° Cel., the production of indol, the non-utilization of sodium-citrate and the non-utilization of the nitrogen in uric acid by strain of Bact. Coli known to have been isolated from warm-blooded animal feces."

Die vergleichende Gegenüberstellung zeigt, daß nicht in allen Fällen das Zitrat unverwertbar ist.

Ein anderer Forscher, Minkewitch (8) glaubt bei Verwendung der Bulirprobe bei 46° auf die Zitratprobe verzichten zu können. Er schreibt:

„Die Gärprobe bei 37° läßt coli-ähnliche Bakterien durchschlüpfen und verlangt daher noch die Zitratprobe. Bei Verwendung der Bulirprobe bei 46° kann auf die amerikanische Differential-Methode verzichtet werden."

Seine Untersuchungen, die noch die Methylrotprobe nach Clark & Lubs und den Nachweis von Azetyl-methyl-carbinol (die sogenannte Voges-Proskauer'sche Reaktion) wie auch die Harnsäureprobe mit einbeziehen, hat er folgendermaßen zusammengefaßt:

Bact.:	Methylrot	Voges/Proskauer	Harnsäure	Na-Zitrat
Coli	+	—	—	—
Aerogenes	—	+	+	+

Nach Pesch (9) jedoch sollen unter den Coliproben die Methylrotprobe und die Voges-Proskauer'sche Reaktion weniger konstant sein und auch bei coli-ähnlichen Bakterien vorkommen. Pesch (10) hat auf seinen Nährböden als Stickstoffquelle $(NH_4)_3PO_4$ oder NH_4Cl oder $(NH_4)_2CO_3$ oder $(NH_4)_2SO_4$ verwandt und Kalium- oder Natriumzitrat als Kohlenstoffquelle. Er fand, daß auf solchen Nährböden das bacterium coli commune nicht wächst, Paratyphus-A

ebenfalls nicht, wohl aber Paratyphus-B. In Untersuchungen, ausgeführt mit Ammonchloridzitratagar, hat Pesch (11) 50 milchzuckerzerlegende und milchzuckernichtzerlegende, indolpositive und indolnegative, malachitresistente und malachitempfindliche, haemolysierende und nicht haemolysierende Colistämme verimpft. Keiner dieser Stämme war imstande auf Ammonchloridzitratagar zu wachsen.

Pesch (11) steht auf dem Standpunkt: „Auf Grund meiner Erfahrungen trage ich kein Bedenken, bei Untersuchungen fraglicher Stämme einen auf Zitratagar wachsenden Stamm als nicht in die Coligruppe gehörend zu bezeichnen."

Es gehört nach Pesch (11) zum Begriff „bacterium coli", daß auf Ammonchloridzitratagar keine Kolonien entstehen.

Die Herstellung des von Pesch (9) angegebenen Ammonchlorid-Zitrat-Agars.

30 g Fadenagar werden 24 Stunden lang in fließendes Leitungswasser gelegt und anschließend nochmal ebensolang der Einwirkung von wiederholt erneuertem destilliertem Wasser ausgesetzt.

Dann fügt man hinzu:

1,0 g $K_2 H PO_4$
0,5 g $Mg SO_4$
0,02 g Na Cl
Spuren $Fe SO_4$
Spuren $Ca_3 (PO_4)_2$
6,63 g $NH_4 Cl$

Das Gemisch wird mit destilliertem Wasser auf 1000 g aufgefüllt und im Autoklav bei 0,5 Athmosphären Überdruck verflüssigt. Hernach wird das durch Abdampfen geschwundene Gemenge wiederum mit destilliertem Wasser auf 1000 gr aufgefüllt und durch Hinzugeben von 10%iger Natronlauge bis zu einem PH-Wert von 7,6—7,8 alkalisiert. Zum Schluß gibt man zu dem noch flüssigen Nährboden 10 g Natriumzitrat, mischt alles gut durch, läßt 20—30 Minuten in strömendem Dampfe sterilisieren und gießt aus in Petrischalen. Man rechnet ungefähr 100 g Agar für 5 Petrischalen von 10 cm Durchmesser.

Anwendung des Ammonchlorid-Zitrat-Agars nach Pesch (9).

Die erstarrten Nährböden werden mit einer nicht zu dünnen Aufschwemmung einer frischen Kultur des zu untersuchenden Stammes in physiologischer Kochsalzlösung beimpft. Nach einer 24—36stündigen Bebrütung bei 37° (nicht früher) wird das Wachstum bei durchfallendem Licht geprüft. Als Test-Objekt können dienen einseits ein zitratnegativer sicherer Colistamm und andererseits ein zitratposiver Aerogenes- oder Paratyphus-B-Stamm.

Richtlinien für die eigenen Untersuchungen.

Aus Trinkwasserproben, Schwimmbadwässern und Abwässern, zum Vergleich auch aus dem Kot von Kindern, wurden nach der Coli-Nachweismethode von Bürger Coli-Bakterien herausgezüchtet mit allen Eigenschaften, die man von einem typischen bacterium coli commune verlangen muß. Solche sicheren Stämme wurden dann auf Ammonchloridzitratagar auf ihre Wachstumsfähigkeit geprüft. Nach Pesch's Untersuchungen sollen typische Coli-Bakterien auf diesem Nährmedium keine Kolonien bilden. Paratyphus-A, der, wie Pesch's (10) Untersuchungen ergeben haben, auf Zitratagar auch nicht wächst, genau wie bacterium coli nicht, kann aus diesen Untersuchungen fernbleiben, da er endemisch bei uns gar nicht in Frage kommt. Er war vor dem Krieg in Deutschland sehr selten. Doch sahen wir ihn in den letzten Jahren häufiger, aber immer nur als eingeschleppte Fälle aus dem Osten.

Von Typhusbakterien, wovon ich nur einen einzigen Stamm auf Zitratagar geprüft habe, erhielt ich keine Kolonien. Selbst wenn es sich auf Grund zahlreicherer Untersuchungen erweisen würde, daß Typhusbakterien auf Zitratagar nicht wachsen, so würde dies doch zu keinen Verwechslungen mit bacterium coli führen, weil sich bacterium typhi schon auf Endoagar, der dem Zitratagar vorausgeschickt wird, vom bacterium coli unterscheidet.

Paratyphus-B, der noch in diese Gruppe gehört, zeigt nach Pesch (10) auf Zitratagar ein gutes Wachstum.

Mithin konnten sich die Untersuchungen beschränken auf die Prüfung von Colistämmen hinsichtlich ihrer Fähigkeit auf Ammonchloridzitratagar zu wachsen.

Die eigenen Untersuchungen.

Von 16 Stämmen, gezüchtet aus Proben von Schwimmbadwässern und Trinkwässern, die nach 24stündiger Bebrütung bei 37° auf Endoagar typische Colikolonien bildeten mit charakteristischem Fuchsinglanz, und welche außerdem in Neutralrot Gas bildeten bei gelblicher Fluoreszenz, Lackmusmolke rot färbten, die positive Indolprobe gaben, unter dem Mikroskop schwache Beweglichkeit oder die Brown'sche Molekularbewegung zeigten, kurze Stäbchen darstellten und gramnegativ sich erwiesen, zeigten alle auf Zitratagar (nach Pesch hergestellt) nach 24stündiger Bebrütung bei 37° ein minimales Wachstum d. h. es waren keine eigentlichen Kolonien zu sehen wie etwa bei der Kultivierung des bacterium coli auf Endoagar, sondern man konnte nur, mit dem bloßen Auge eben an der Sichtbarkeitsgrenze stehenden Kolonien erkennen. Auch nach 48 Stunden zeigten 15 Stämme dasselbe minimale Wachstum, während ein Stamm deutliche Kolonien aufwies.

Von 17 Stämmen mit typischen Coli-Eigenschaften, aus Abwasser gezüchtet, zeigten alle 17 nach 24stündiger Bebrütung bei 37° ein minimales Wachstum. Nach weitern 24 Stunden Bebrütung war bei 16 Stämmen das Wachstum immer noch minimal, während ein Stamm deutliche Kolonien aufwies.

Ein Colistamm aus Abwasser gewonnen und mit schwacher Indolprobe ist auf Zitratagar nach 24 Stunden unter guter und nach 48 Stunden unter starker Kolonienbildung gewachsen.

Außerdem wurden aus Abwässern 2 indolnegative Colistämme gewonnen. Auch diese zeigten nach 24- wie nach 48stündiger Bebrütung bei 37° auf Zitratagar ein minimales Wachstum.

Neun Colistämme aus dem Kote von Rindern gewonnen, von denen 8 indolpositiv und einer indolnegativ waren, zeigten alle 9 nach 24- wie nach 48stündiger Bebrütung ein minimales Wachstum.

Stämme gewonnen aus	Coli-Eigenschaften außer Indolprobe	Indolprobe	Wachstum auf Zitratagar nach 24 h	Wachstum auf Zitratagar nach 48 h	Zahl der Stämme
Trink- und Badewässern	+	+	minimal	minimal	15
	+	+	minimal	gut	1
Abwässern	+	+	minimal	minimal	16
	+	+	minimal	gut	1
	+	schwach	gut	stark	1
	+	—	minimal	minimal	2
Rinderkot	+	+	minimal	minimal	8
	+	—	minimal	minimal	1
Trink- und Abwasser	—	—	minimal	gut	1
	—	—	gut	gut—stark	6

7 Stämme, die indolnegativ waren und nicht alle Eigenschaften zeigten, die man für das typische bacterium coli commune verlangen muß, also coli-ähnliche Bakterien, sind allesamt auf Zitratagar nach 48stündiger Bebrütung bei 37° gut oder stark gewachsen.

Ergebnis der Untersuchungen.

Von 41 Stämmen mit sämtlichen für das bacterium coli commune typischen Eigenschaften, einschließlich der positiven Indolprobe, ist nach 24stündiger Bebrütung bei 37° kein einziger stärker als minimal gewachsen. Erst nach weiteren 24 Stunden Bebrütung bei 37°, also nach insgesamt 48stündiger Bebrütung, zeigten von den 41 Stämmen 2 Stämme deutlich sichtbare Kolonien. Im Gegensatz dazu bildeten die untersuchten 7 coli-ähnlichen Bakterien nach 48stündiger Bebrütung allesamt mindestens gute, im allgemeinen jedoch reichliche Kolonien. Demnach darf man bei Untersuchungen fraglicher Stämme wohl mit Recht sagen, daß ein Stamm, der nach 48stündiger Bebrütung bei 37° auf Zitratagar nur minimales Wachstum zeigt, sicher als bacterium coli commune anzusehen ist.

Außerdem ergaben die Versuche, daß der Ammonchloridzitratagar keine Möglichkeit bietet, Colistämme aus Trinkwasser, Bade- und Abwasser zu unterscheiden von Colistämmen die herrühren aus dem Kote von Rindern. Man hat also in dem „Ammonchloridzitratnährboden" eine nicht zu unterschätzende Erweiterung der sogenannten „bunten Reihe" des Coli-Nachweises zu erblicken.

Zum Schluß erlaube ich mir noch Herrn Professor Dr. K. Wolf für die Überlassung des Themas und Herrn Privatdozent Dr. Saleck für die liebenswürdige Unterstützung meinen besten Dank auszusprechen.

Literatur.

(1) Bernhard Bürger, Gesundheitsingenieur. 50. Jg. 1927, S. 910

(2) Hajo Bruns, Prof. Dr., Trink- und Nutzwasser in der deutschen Wirtschaft. Herausgegeben von Dr. Willi Vollbrecht und Dr. Richard Sternberg-Raasch. Aus dem Kap. Wasseruntersuchung. Verlag Reimar Hobbing in Berlin.

(3) Aug. Gärtner, Hygiene des Wassers. 1915.

(4) Koser Stewart, A. Journal of Bacteriology: Bd. 8, 493 (1923); (5) Bd. 9, 59 (1924); (6) Bd. 11, 409 (1926).

(7) Laban W. Leiter, American Journal of Hygiene. Bd. 9. (1929). S. 705.

(8) J. E. Minkewich, Trofimuk etc. Zeitschrift f. Hygiene. Bd. 109 (1929) S. 348.

(9) L. Pesch, Gesundheitsingenieur. 52. Jg. 1929. S. 884.

(10) Karl Pesch, Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 86. (1921). S. 97.

(11) Karl Pesch, Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 111. (1919). S. 171.

(12) Dr. med. Kurt Wolf, Öffentliche und persönliche Gesundheitspflege in ihrer Bedeutung für den Einzelnen. Leipzig.

Lebenslauf.

Ich bin am 18. Mai 1905 in Stuttgart geboren als Sohn des Kaufmanns Viktor Woitowitz.

Mit sieben Jahren besuchte ich die Bürgerschule in Stuttgart. Später trat ich über in die Friedrich-Eugen-Oberrealschule in Stuttgart, woselbst ich im März 1924 die Reifeprüfung ablegte.

Im Frühjahr 1924 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Tübingen. Dann folgen Studiensemester in München und Wien und zuletzt wieder in Tübingen, wo ich Ende Juni 1931 das ärztliche Staatsexamen vollständig und mit Note gut bestanden habe.

Woitowitz.